

Title	The Protective Function of Galectin-9 in Liver Ischemia and Reperfusion Injury in Mice(Abstract_要旨)
Author(s)	Hirao, Hirofumi
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2017-03-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k20251
Right	Final publication is available at http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/lt.24159/full
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（ 医学 ）	氏 名	平 尾 浩 史
論文題目	The Protective Function of Galectin-9 in Liver Ischemia and Reperfusion Injury in Mice (マウス肝虚血再灌流障害におけるガレクチン-9の保護効果)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】肝移植において虚血再灌流障害は、早期グラフト不全の原因となり、急性・慢性拒絶の発症頻度を増加させ、虚血再灌流障害の予防・軽減はグラフト機能保持ならびに臓器保存の観点からも重要な課題である。そのメカニズムとしては Kupffer 細胞（肝マクロファージ）・好中球・類洞内皮細胞の相互作用が知られているが、T 細胞特に CD4 陽性 T 細胞が重要な因子であると報告されている。T 細胞に発現する TIM (T-cell Immunoglobulin Mucin)分子（近年では immune checkpoint therapy として注目される）が、免疫制御因子として作用することが報告された。一方で、Galectin(Gal)は、βガラクトシドを認識する糖鎖であり多数のサブタイプが存在する。中でも Gal-9 は好酸球遊走因子として本邦で見出され、TIM-3 の ligand として作用し CD4 陽性 T 細胞に対して抑制作用を持つとされる。Gal-9 は肝臓に豊富に存在するが、肝虚血再灌流障害における機能は不明である。本研究は、肝虚血再灌流障害における Gal-9 の役割および recombinant 製剤（安定型 Gal-9）による保護効果を検討した。</p> <p>【方法】野生型 C57BL/6 マウスおよび Gal-9knock out (KO) マウスに対して、肝 70%部分肝温虚血 90 分を加え再灌流後 6 および 24 時間に血液および肝組織を採取した。実験群は各々のマウスにおいて Gal-9 投与および非投与による 4 群とし比較検討した。血清 ALT 値測定、HE 染色による組織学的評価、肝組織における炎症性サイトカイン・ケモカイン (TNF-α、IL-1β、IL-6、CXCL-1、CXCL-2、INF-γ) の発現、免疫染色による肝組織中の CD3、CD68、Ly-6G 陽性細胞の浸潤、血液・肝組織における Gal-9 の発現、TUNEL 染色によるアポトーシスを検討した。</p> <p>【結果】Gal-9 は、虚血刺激の段階ですでに生理学的状態に比べ肝細胞内に多く発現し、さらに再灌流後の肝臓において非壊死部位（生存肝細胞）に強く発現した。Gal-9 血中濃度は、生理的状态では低濃度であるにも関わらず、再灌流 1 時間後をピークとして上昇し、再灌流 24 時間後にかけて減少しており、その生体内の変動を肝組織での発現結果と合わせて明らかにした。野生型マウスに安定型 Gal-9 を前投与し、温虚血再灌流障害モデルを作成した所、その肝障害は著明に改善された。一方で、Gal-9KO マウスにおける肝障害は、野生型に比べ有意に増悪し、安定型 Gal-9 の外因性投与によりその障害は有意に改善された。肝組織中の炎症性サイトカイン・ケモカイン (TNF-α、IL-1β、IL-6、CXCL-1、CXCL-2、INF-γ) は Gal-9 投与群で有意に抑制され、肝組織中の CD3、CD68、Ly-6G 陽性細胞浸潤も有意に抑制され、さらにアポトーシスも有意に抑制（TUNEL 陽性細胞の減少）された。</p> <p>【考察】肝虚血による侵襲刺激から、肝組織内 Gal-9 発現が誘導され、再灌流に伴い血中に放出された結果、炎症反応が抑制され、また、外因性 Gal-9 の投与は、肝虚血再灌流障害の改善に寄与した。本研究により肝虚血再灌流障害に対する Gal-9 の保護効果が明らかとなり、Gal-9-TIM-3 pathway の制御は、肝虚血再</p>			

灌流障害における新たな治療戦略となり得る可能性が示唆された。
（論文審査の結果の要旨）
肝虚血再灌流障害は、肝切除や肝移植などの肝臓外科領域において重篤な合併症を引き起こす病態である。その障害を規定する因子として T 細胞の関与が知られている。今回申請者は、T 細胞を抑制する作用を有するガレクチン-9に注目し、野生型マウスおよびガレクチン-9 ノックアウトマウスを用いて虚血再灌流による刺激を加え、リコンビナントガレクチン-9 投与群、非投与群における肝障害を評価検討した。
虚血再灌流刺激により、ガレクチン-9 ノックアウトマウスでは野生型マウスに比べ有意に血清 ALT 値の上昇および肝組織障害の増悪が認められた。一方でリコンビナントガレクチン-9 投与群では、野生型およびノックアウトマウスにおいて血清 ALT 値の有意な低下を認め、肝障害は軽減された。リコンビナントガレクチン-9 投与群では T 細胞、マクロファージ、好中球などの炎症性細胞の浸潤も有意に抑制され、肝組織中の炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、INF- γ) ケモカイン (CXCL-1、2) の発現も有意に抑制され、肝細胞のアポトーシスも抑制されており、肝虚血再灌流障害に対して保護効果を示した。
また、肝組織におけるガレクチン-9 の免疫染色およびウェスタンブロットによる定量、血中のガレクチン-9 測定の検討から、ガレクチン-9 は虚血により肝内に誘導され、肝組織障害に伴い血中に放出され抗炎症効果を示すという結果が示された。
以上の研究は、肝虚血再灌流障害におけるガレクチン-9 の保護効果の機序解明に貢献し、ガレクチン-9 の臨床応用への礎に寄与するところが多いと考えられる。
したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。
なお、本学位授与申請者は、平成 2 9 年 2 月 1 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。